

BIOLABO
www.biolabo.fr
FABRICANTE:
BIOLABO SAS,
Les Hautes Rives
02160, Maizy, France

HEMOGLOBINA

Método colorimétric (Cianometahemoglobina)

Reactivo para la determinación cuantitativa de la hemoglobina (Hb) en sangre total

REF 3502200	**R1**	2 x 200 mL

CODIGO CNQ: E2

SOPORTE TECNICO Y PEDIDOS
Tel: (33) 03 23 25 15 50
Fax: (33) 03 23 256 256

CE

IVD **USO IN VITRO**

SIGNIFICACION CLINICA (1)

Una concentración suficiente de hemoglobina en la sangre es necesaria para un transporte adecuado del O_2 y el CO_2 entre los pulmones y otros tejidos. Una disminución de la tasa de hemoglobina en sangre puede ser debida a una hemorragia o una hemólisis, o ser el resultado de una perturbación de la formación de las células sanguíneas en la médula ósea hematopoyética. De forma inversa, un aumento de la hemoglobina en sangre puede tener su origen en una anomalía del intercambio gaseoso a nivel de pulmonar, u otras enfermedades. La medida de la concentración de hemoglobina en sangre es importante como etapa inicial en el diagnóstico de anemias (disminución de la hemoglobina) o de eritrocitosis (aumento de los eritrocitos y de la hemoglobina).

PRINCIPIO (4) (5)

Método colorimétrico reconocido como método de referencia por el comité internacional para la estandarización en hematología.

Fe^{2+} de la hemoglobina es oxidada en Fe^{3+} de la metahemoglobina por el ferricianido, y la metahemoglobina reacciona entonces con el cianuro de potasio (KCN) para formar la cianometahemoglobina, un compuesto muy estable.

La absorbencia de la cianometahemoglobina, directamente proporcional a la concentración en hemoglobina, es medida a 546 nm (520-560).

REACTIVOS

Vial R1 **REACTIVO DE TRABAJO**

Tampón Fosfato	1	mmol/L
Cianuro de Potasio	0,75	mmol/L
Ferrocianuro de Potasio	0,6	mmol/L
Detergente	0,1	g/L
Conservante	< 0,1	%

PRECAUCIONES

Los reactivos BIOLABO están destinados únicamente a profesionales, para uso in vitro.

- Verificar la integridad de los reactivos antes de su utilización.
- Utilizar equipamientos de protección (bata, guantes, gafas).
- No pipetear con la boca.
- En caso de contacto con la piel o los ojos, enjuagar abundantemente y consultar al médico.
- La ficha de datos de seguridad puede obtenerse por petición.
- Eliminación de los deshechos: respetar la legislación en vigor.

Por medida de seguridad, tratar toda muestra como potencialmente infecciosa. Respetar la legislación en vigor.

PREPARACION DE LOS REACTIVOS

El reactivo está listo para el uso.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Almacenar protegido de la luz, en el vial de origen bien cerrado a 18-25°C.

- En ausencia de contaminación, los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de la caja, si son utilizados y almacenados en las condiciones adecuadas.
- No utilizar el reactivo si hay turbidez o si la absorbancia medida a 546 nm > 0.010 abs.

TOMA Y PREPARACION DE LA MUESTRA (2)

Sangre total (EDTA).

Sangre fetal: extraer toma de muestra umbilical percutánea. Homogeneizar suavemente antes de la prueba.

La hemoglobina es estable en la muestra:

- 48 h a 2-8°C.
- 24 h a temperatura ambiente (< 25°C).

INTERFERENCIAS (2) (3)

La lipemia o una concentración leucocitaria > 25.10^9/L ocasiona resultados sobre-evaluados. Resultados sobre-evaluados pueden también ser observados en presencia de HbC o de HbS, de dolencia hepática grave o a continuación de precipitación de las globulinas (ej: mieloma múltiple o macroglobulinemia de Waldenström).

Young D.S. ha publicado una lista de las sustancias que interfieren con la prueba.

REACTIVOS Y MATERIAL COMPLEMENTARIO

1. Equipamiento de base del laboratorio de análisis médico.
2. Sangres de control normales y patológicas.

CALIBRACION (6)

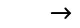
Utilizar el factor de calibración indicado en el § **CALCULO** o un calibrador (cianometahemoglobina) titulado con este método.

La frecuencia de calibración depende de las prestaciones del analizador y de las condiciones de conservación del reactivo.

Se recomienda calibrar de nuevo en los siguientes casos:

1. Cambio de lote del reactivo.
2. Después de operación de mantenimiento sobre el analizador.
3. Los valores de control obtenidos se salen de los límites de confianza, incluso después de la utilización de un nuevo vial de sangre de control.

 Fabricante
 Fecha de caducidad
 Uso in vitro
 Temperatura de conservación
 Referencia del producto
 Consultar instrucciones
 Numero de lote
 Protegido de la luz
 Suficiente para


 Diluir con

CONTROL DE CALIDAD CODIGO CNQ: E2

- Sobre toda sangre de control titulada para este método.
- Programa externo de control de calidad.

Se recomienda controlar en los siguientes casos:

- Al menos un control por rutina.
- Al menos un control cada 24 horas.
- Cambio de vial del reactivo.
- Después de operación de mantenimiento sobre el analizador.

Cuando un valor de control se encuentra fuera de los límites de confianza recomendados, aplicar las siguientes acciones correctivas:

1. Repetir la operación utilizando el mismo control.
2. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, repetir el test sobre otro vial de sangre de control.
3. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, verificar los parámetros de análisis: longitud de onda, temperatura, volumen muestra/volumen reactivo, tiempo de incubación y factor de calibración.
4. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, utilizar otro vial de reactivo y repetir el test.
5. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, contactar el servicio técnico BIOLABO o el distribuidor local.

INTERVALOS DE REFERENCIA (2)

En sangre fetal	g/dL	g/L	mmol/L
18-20 semanas	11,5 ± 0,78	115 ± 7,8	7,13 ± 0,48
21-22 semanas	12,3± 0,89	123± 8,9	7,63 ± 0,55
23-25 semanas	12,4 ± 0,77	124 ± 7,7	7,69 ± 0,48
26-30 semanas	13,4 ± 1,17	134 ± 12	8,31 ± 0,75

En sangre de cordón	g/dL	g/L	mmol/L
	13,5-20,5	135-205	8,37-12,7

En sangre total	g/dL	g/L	mmol/L
0-5 meses	13,4-19,8	134-198	8,31-12,28
1 mes	10,7-17,1	107-171	6,63-10,6
2 meses	9,4-13,0	94-130	5,83-8,06
4 meses	10,3-14,1	103-141	6,39-8,74
6 meses	11,1-14,1	111-141	6,88-8,74
9 meses	11,4-14,0	114-140	7,07-8,68
12 meses	11,3-14,1	113-141	7,01-8,74
1-2 años	11,0-14,0	110-140	6,82-8,68
2-5 años	11,0-14,0	110-140	6,82-8,68
5-9 años	11,5-14,5	115-145	7,13-8,99
9-12 años	12,0-15-0	120-150	7,44-9,3
12-14 años Hombre	12,0-16,0	120-160	7,44-9,92
Mujer	11,5-15,0	115-150	7,13-9,3
15-17 años Hombre	11,7-16,6	117-166	7,25-10,29
Mujer	11,7-15,3	117-153	7,25-9,49
18-44 años Hombre	13,2-17,3	132-173	8,18-10,73
Mujer	11,7-15,5	117-155	7,25-9,61
45-64 años Hombre	13,1-17,2	131-172	8,12-10,66
Mujer	11,7-16,0	117-160	7,25-9,92
65-74 años Hombre	12,6-17,4	126-174	7,81-10,79
Mujer	11,7-16,1	117-161	7,25-9,98

Se recomienda a cada laboratorio definir sus propios intervalos de referencias para la población estimada.

PRESTACIONES

Intra-serie N = 20	*Tasa baja*	*Tasa elevada*
Media g/dL	6,7	18,9
S.D. g/dL	0,05	0,11
C.V. %	0,7	0,6

Inter-serie N =20	*Tasa baja*	*Tasa elevada*
Media g/dL	6,3	17 ,1
S.D.g/dL	0,29	0,42
C.V. %	4,6	2,5

Límite de detección: aproximadamente 0,3 g/dL

Sensibilidad para 10 g/dL: aproximadamente 0,272 Abs. a 546 nm.

Comparación con reactivo comercial:

y = 0,9999 x + 0,08 r = 0,9962

LIMITE DE LINEALIDAD

La reacción es lineal hasta 250 g/L, 25 g/dL, 15,5 mmol/L (Hb/4).

MODO DE EMPLEO (TECNICA MANUAL)

Introducir en tubos de ensayo**:**	**Blanco**	**Prueba**
Reactivo	5 mL	5 mL
Agua desmineralizada	20 µL	
Sangre homogeneizada		20 µL

Utilizar preferentemente una pipeta de desplazamiento positivo para distribuir la sangre. Enjuagar bien la pipeta por aspiración-rechazo en el reactivo. Mezclar bien e incubar por lo menos 3 minutos a temperatura ambiente. Leer la absorbencia a 546 nm (520-560) contra el blanco reactivo.

Proteger de la luz, la reacción es estable por lo menos 1 hora.

Nota: Procedimientos específicos están disponibles para analizadores automáticos. Contactar el servicio técnico BIOLABO.

CALCULO

	λ = 530 nm	λ = 546 nm	λ = 550 nm
Hb (g/L)	Abs x 386,1	Abs x 367,7	Abs x 376,2
Hb (g/dL)	Abs x 38,61	Abs x 36,77	Abs x 37,62
Hb mmol/L (Hb/4)	Abs x 23,96	Abs x 22,82	Abs x 23,34

Estos factores están dados a título indicativo y pueden variar ligeramente. Se recomienda verificar sobre sangre de control.

BIBLIOGRAFIA

(1) TIETZ N.W. Text book of clinical chemistry, 3rd Ed. C.A. Burtis, E.R. Ashwood, W.B. Saunders (1999) p. 1657-1688.

(2) Clinical Guide to Laboratory Test, 4th Ed., N.W. TIETZ (2006) p. 518-531

(3) YOUNG D.S., Effect of Drugs on Clinical laboratory Tests, 4th Ed. (1995) p. 3-325 à 3-330

(4) DRABKIN, D.L., and AUSTIN, J.H., J Biol, Chem., (1935), 112, p.51

(5) VAN KAMPEN, E.J. and ZIJLSTRA W.G., Determination of hemoglobin and its derivatives advances in clinical chemistry (1965), 8, 141-187

(6) VAN KAMPEN, E.J. and ZIJLSTRA W.G., International Committee for standardization in haematology, British journal of haematology (1967), 13 [Suppl] 71